

Haptoglobindifferenzierung auf Celluloseacetatfolien

von
Otto Fuss
aus
Rochlitz



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548611_0090

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Haptoglobindifferenzierung auf Celluloseacetatfolien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Otto Fuss
aus
Rochlitz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. G. Koch
Referent: Prof. Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 3. 1972

A. Einleitung

Die Bestimmung von Haptoglobinen, wie sie im Zusammenhang mit hämolytischen Anämien sowie zur Aufklärung genetisch determinierter Haptoglobin-Typen notwendig wird, wird im allgemeinen mit einer Technik vorgenommen, die eine Darstellung und Differenzierung von Haptoglobin-Hämoglobin-Komplexen und zugleich deren quantitative Auswertung gestattet. Erfahrungsgemäß werden hiermit nicht nur Hämolysederivate, welche an Haptoglobin gebunden werden, sondern auch solche, die an β -Globuline und sogar an Albumin fixiert werden, miterfaßt. Als Untersuchungstechnik eignet sich hierzu am besten die elektrophoretische Trennung eines Serums mit nachfolgender spezifischer Hämoglobin-Nachweisreaktion unter Ausnutzung der Peroxidase-Aktivität. Am geläufigsten ist die Benzidinreaktion; darüber hinaus wurden auch Leukomalachitgrün sowie o-Dianisidin verwendet (36). Als Elektrophoresemedien wurden Papier, Agargel, Polyacrylamidgel, Stärkegel sowie Celluloseacetatfolien angegeben (2 - 4, 7 - 14, 24 - 25, 28, 31 - 33, 40 - 49, 52, 55 - 56, 62, 66 - 68).

In vorliegender Arbeit sollte die gebräuchliche Benzidin-Nachweisreaktion in Kombination mit der heute weit verbreiteten Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien auf ihren praktischen Wert als Routinemethode geprüft werden.

B. Hauptteil

I. Versuchsanordnung und Methodik

1. Versuchsanordnung.

Es wurden insgesamt 65 Seren untersucht. Dabei handelte es sich um 60 Seren von Patienten aus einem unausgewählten Krankengut und um 5 Normalseren. Jedes Serum wurde in einem doppelten Analysensatz bei einem p_H von 8,6 auf Celluloseacetatfolien elektrophoretisch getrennt. Einer der Celluloseacetatfolienstreifen wurde mit Nativserum beschickt und nach Anschluß der Elektrophorese zur Darstellung der Proteinkomponenten mit Amidoschwarz 10 B beschickt. Der andere Streifen wurde mit einem Hämoglobin - Serum - Gemisch beschickt und nach elektrophoretischer Trennung zur Darstellung der Hämoglobin - Haptoglobin - Komplexe mit Benzidinreagenz behandelt.

Die Proteinfärbung diente im wesentlichen als Muster für die Zuordnung der benzidinfärbbaren Fraktionen zu dem bekannten Serumproteinkomponentensystem.

2. Methodik.

a) Aufbereitung des Serum-Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes :

Zu 3 ml frisch entnommenen Vollblutes wurden 0,2 ml aqua bidest. hinzugefügt, zentrifugiert

(3 000 Upm) und dann das überstehende hämolytische Serum für die Untersuchung verwendet.

b) Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien(40-49).

Apparative Einrichtung, Material und Reagenzien :

Elektrophoresekammer mit Spannungsspeisegerät (bis zu 300 V und 1,2 mA; Elphor - Grundausrüstung der Fa. Bender & Hobein, München)

Integralschreiber (ZEISS, Oberkochen_n)

Trockenschrank

Glasplatten

Celluloseacetatstreifen: Selecta - Elektrophoresefolien

(18 x 160 mm für Kurzzeitelektrophoresen, Fa. Bender & Hobein, München)

Färbewannen

Michaelispuffer: p_H 8,6 Ionenstärke μ 0,05

Zusammensetzung: 29,34 g Veronal - Na

19,42 g Na - Acetat

180 ml n/10 Salzsäure

mit aqua bidest. ad 3 000 ml aufgefüllt.

Der angegebene Puffer wurde für die Elektrophoresen im Verhältnis 1 : $\frac{2}{1}$ mit aqua bidest. verdünnt.

Methanol

Eisessig

Benzidin. puriss.

Wasserstoffperoxyd 30 %

Amidoschwarz 10 B (Merck)

Transparenzlösung: Zusammensetzung:

Dioxan : Butanol-2 = 9 : 1 (v/v)

Filtrierpapier (Schleicher & Schüll, Nr. 2043 b)

Zusammensetzung der Färbelösung:

Methanol: 9 Teile

Eisessig: 1 Teil

Amidoschwarz 10 B

0,5 %ige Lösung von Amidoschwarz 10 B in
obigem Methanol-Eisessig-Gemisch

Zusammensetzung des Entfärbers:

Methanol: 9 Teile

Eisessig: 1 Teil

c) Arbeitsgänge.

Auftragen der Serumproben auf CAF - Streifen.

Die CAF - Streifen werden zunächst für zwanzig Minuten in eine Wanne mit im Verhältnis 1 : 2 mit aqua bidest. verdünntem Michaelispuffer eingebracht, um eine möglichst gleichmäßige Benetzung zu erreichen. Danach werden sie zwischen Filterpapier getrocknet, um den überflüssigen Puffer zu entfernen und unverzüglich auf den mit Michaelispuffer befeuchteten Steg der Elektrophoresekammer aufgebracht. Mit einer Mikropipette wird nunmehr an der Kathodenseite die Serumprobe strichförmig aufgetragen. Die dabei aufgebrauchte Serummenge beträgt weniger als 0,08 mg/cm Streifenbreite.

Elektrophorese.

Für die Elektrophorese sind eine konstante Gleichspannung von 220 V und eine Stromstärke von 0,6 mA erforderlich. Bei komplett ausgenutzter Elektrophoresekammer (10 Streifen) beträgt die Trennzeit 80 min.

Proteinfärbung.

Färbelösung: 0,5 %ige Lösung von Amidoschwarz 10 B (Merck) in einem Gemisch aus Eisessig und Methanol im Verhältnis 9 : 1 (v/v). Die noch feuchten Streifen wurden fünf Minuten lang in die Proteinfärbelösung gelegt. Danach wurden sie in drei Entfärbebädern je fünf Minuten entfärbt. Dabei wurde eine vollständige Entfernung der überschüssigen, nicht proteingebundenen Farbe auf dem Streifen erreicht.

Transparenzverfahren und Trocknen.

Zur Erzielung einer möglichst vollständigen Transparenz wurden die Streifen auf eine fettfreie Glasplatte blasenfrei aufgebracht und für fünf Minuten in ein Transparenzbad aus Dioxan und Butanol-2 im Verhältnis 7 : 3 (v/v) eingebracht. Die Streifen wurden dann in einem Trockenschrank bei einer Temperatur von 105° C getrocknet. Sie gingen dabei in einem glasklaren Trockenfilm über, der eine genaue photometrische Auswertung ermöglichte.

Photometrische Auswertung.

Jeder Streifen wurde nunmehr über eine Photozelle (Selenzelle) in Millimeterabständen hinweggeführt. Die Farbinintensitäten wurden als GAUSS' sche Kurven wiedergegeben, wo-

bei die Höhe jeder Kurve direkt proportional der Farbintensität und damit weitgehend den Konzentrationen entsprachen.

Haptoglobinfärbung mit Benzidinreagenz.

Als Färbereagenz wird eine 10 %ige Benzidinlösung in Eisessig verwandt. Dazu werden 2 g Benzidin in 20 ml Eisessig unter Erwärmen aufgelöst und nach dem Abkühlen mit aqua bi-dist. ad 100,0 ml aufgefüllt. Die Lösung wird mit 1 ml 30 %igem Wasserstoffperoxyd versetzt. Danach werden die Streifen noch pufferfeucht auf eine Glasplatte aufgebracht und in die Lösung eingelegt, aus der sie dann nach einer Minute Höchstfärbedauer wieder entnommen werden. Die Reaktion wird dann mit 20 %iger Essigsäure wieder zum Stehen gebracht, um eine klare Begrenzung der Fraktionen zu erhalten. Auf die Behandlung im Transparenzbad wird verzichtet, da sich die Fraktionen nicht genügend getrennt voneinander fixieren ließen. Sofort nach Beendigung der Reaktion wurden die Streifen photometrisch ausgewertet.

II. E r g e b n i s s e

1. Hämoglobin - Haptoglobindarstellung.

Im Prinzip gelang mit der angegebenen Technik in jedem der untersuchten Seren der Nachweis wenigstens einer Fraktion mit Peroxidase - Aktivität. Bei Gegenüberstellung der Fraktion mit einem unter gleichen Bedingungen gelaufenen proteingefärbten CAF - Elektrophoresestreifen des gleichen Serums erwies sich der Hämoglobin - Haptoglobinkomplex als α_2 - Globulin. Von den 60 analysierten Seren konnte in acht Fällen eine Fraktion mit den oben angeführten Eigenschaften nachgewiesen werden; die Einzelbefunde differierten in der Intensität der Farbreaktion bzw. im Gradienten (vgl. Abb.1,2).

In weiteren 17 untersuchten Seren konnten drei Komponenten differenziert werden, von welchen zwei dicht nebeneinander im α_2 / β - Globulinbereich nachweisbar wurden und die dritte sich im Bereich der Albumine darstellte. Während die beiden erstgenannten deutlich gefärbt waren, erwies sich die extrem anodisch gewanderte Fraktion nur als schwach gefärbt. In den Abbildungen (1 und 2) sind einzelne der Verteilungsmuster mit Benzidinreagenz darstellbarer Fraktionen wiedergegeben. In vier Seren wurden vier peroxidaseaktive Fraktionen, von denen allerdings auch wieder die α_2 / β_1 - Bereich gelegenen am meisten imponierten, nachgewiesen. In zwei

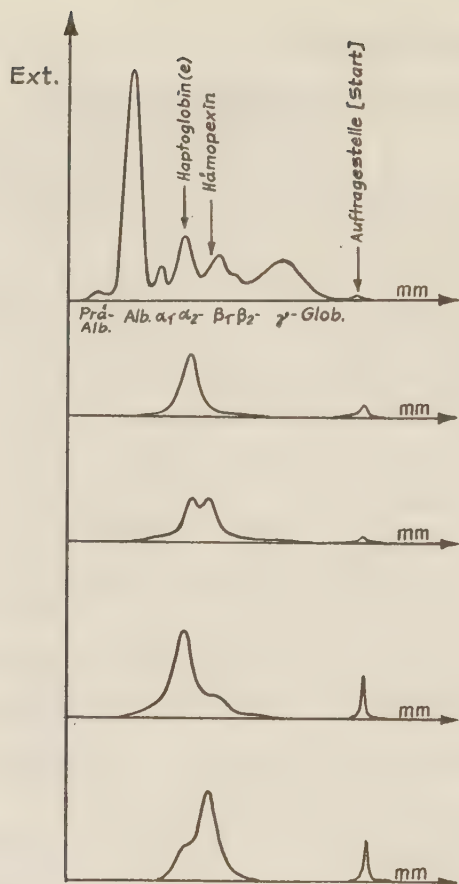


Abb. 1 Darstellung peroxidaseaktiver Fraktionen nach Elektrophorese verschiedener Patientenserum auf Celluloseacetatfolien. Oben: Proteinfärbung (eines Beispiels).

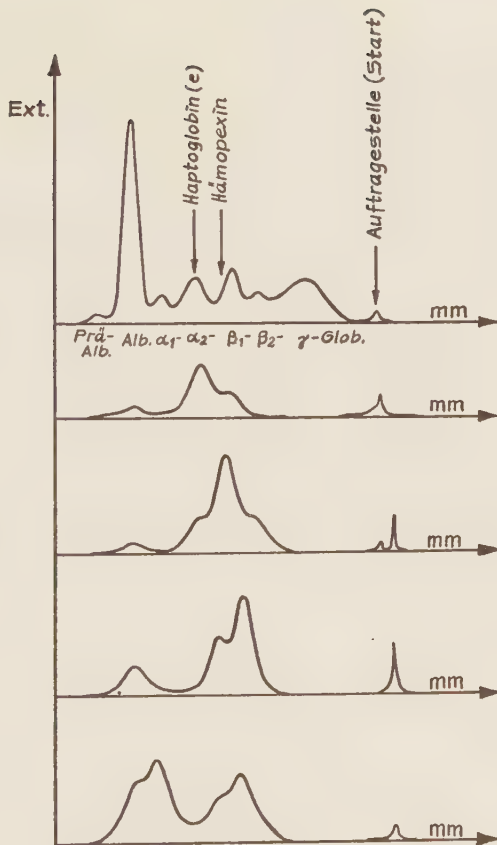


Abb. 2 Weitere Beispiele peroxidaseaktiver Fraktionen in verschiedenen pathologischen Seren nach Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien.

Fällen schließlich lag ein Konstellationstyp mit zwar auch vier Fraktionen aber andersartiger Verteilung vor. (Abb. 2)

2. Proteinkonstellationen.

Die vorliegenden Patientenserum zeigten in jedem Fall eine Dysproteinämie, die zumeist durch eine Hypalbuminämie und eine relative Vermehrung der Globuline gekennzeichnet war. Dabei war entweder die Vermehrung der α - Globuline oder die der γ - Globuline vorherrschend. In zwei Fällen lag ein Paraprotein vor (γ_2 - Typ). Die Proteinbefunde waren darüber hinaus durch den Nachweis einer Albuminvorfraktion und in Einzelfällen durch eine Differenzierung des γ - Globulinbereiches in zwei bis drei Subfraktionen gekennzeichnet (Abb. 1,2).

III. Diskussion

Die Haptoglobine gehören elektrophoretisch der Gruppe der α_2 - Globuline an. Ihr Anteil an den Gesamtplasmaproteinen beträgt 0,9 - 1,9 %. Sie haben die Aufgabe, das bei intravasaler Hämolyse freiwerdende Hämoglobin wie auch die beim Hämoglobinabbau freiwerdenden Fe^{++} - Ionen zu binden. Der Nachweis der Haptoglobine mit der Benzidinreaktion ist indirekt: Es wird nur das an die Haptoglobine stöchiometrisch gebundene Hämoglobin nachgewiesen. Der physiologische Hämoglobinumsatz beträgt 6 - 7 g/d (26). Der physiologische Hämoglobinspiegel im Plasma beträgt 0,3 mg/100 ml (34). Der größte Teil des Hämoglobins wird außerhalb des Gefäßsystems abgebaut, so daß intravasal nur ein kleiner Teil - etwa 1/6 des freigesetzten Hämoglobins - nachweisbar wird (1,5-6,26,29,34,36-37,58,63-64). Haptoglobine sind biochemisch durch ihren relativ großen Kohlehydratanteil (38) sowie durch ihre Oxidaseaktivität ausgezeichnet. Schließlich besteht ein elektrophoretischer Polymorphismus, der zugleich durch genetisch vererbte Faktoren determiniert wird: Hp 1 - 1, Hp 2 - 1 und Hp 2 - 2. Die Differenzierung dieser Typen erfolgt entweder mit der Stärke- oder der Stärkegelelektrophorese mit nachfolgender Benzidinreaktion. Außerdem wird die Differenzierung mit immunchemischer Technik im Agargel (Im-munelektrophorese) unter Verwendung spezifischer Anti - Hp - Seren sowie eines Kontrollserums mit definiertem

Hp - Typ durchgeführt (29,37-39,69).

Intravasal freigesetztes Hämoglobin wie auch Hämoglobin aus Organen, welches dem Gefäßsystem zugeführt wird, wird unverzüglich an Haptoglobin gebunden. Es entsteht ein Haptoglobin - Hämoglobin - Komplex, der mit einer sehr geringen Halbwertszeit (Minuten) (26) in das RHS und damit aus dem Plasma abtransportiert wird. Die Leber ist eines der zentralen Organe der Haptoglobin - Hämoglobinkomplexaufnahme; es folgen das Knochenmark und die Milz (27). Dort erfolgt der Abbau dieses Komplexes. Ist die Bindungskapazität des Hämoglobins erschöpft oder findet sich Haptoglobin verringert, so kommt es zu einer Dissoziation eines Teiles des Hämoglobins in seinen Protein- und seinen Hämanteil. Unter der Voraussetzung, daß Hämoglobin zu Methämoglobin oxidiert wird, kommt es zu einer Zunahme dissoziabler Hämgruppen (17). Nicht an Haptoglobin gebundenes Hämoglobin wird prinzipiell entweder durch Oxidation in Methämoglobin umgewandelt und im Anschluß dissoziiert (17) oder die primär dissoziierten Hämgruppen werden zu Hämatin oxidiert (22). In beiden Fällen handelt es sich um Häm - Derivate mit Fe^{+++} , die nunmehr zur Hauptsache vom β_1 - Hämopepin und, in sehr geringem Umfange auch von Albumin gebunden werden. Hämopepin vermag bei stärkerer Beladung des Albumins mit Hämatin dieses aus dem Methäm - Albumin - Komplex zu übernehmen (1, 22, 51, 64). In allen Fällen werden die Protein - Häm - Komplexe ebenso wie die Haptoglobin - Hämoglobin - Komplexe dem RHS zugeführt

und dort abgebaut bzw. für die Resynthese (Kupffer'sche Sternzellen) bereitgestellt (15-17, 21-23, 27, 30, 50-51, 53-54, 60-61, 65). Ein geringer Teil des Hämoglobins kann allerdings auch über die Niere ausgeschieden werden (18).

Die vorliegenden eigenen Untersuchungsbefunde sind mit den dargelegten Erkenntnissen auf dem Gebiet der Hämoglobinbindungs-, abbau- und umsatzvorgänge unschwer zu interpretieren: In den Fällen, in welchen nur eine Fraktion im α_2 - Bereich mit Oxidaseaktivität nachgewiesen werden konnte, handelte es sich um eine optimale Bindungsfähigkeit des Haptoglobins mit Bezug auf die in den Proben vorgelegte Hämoglobinnmenge. In den Fällen, in welchen im α_2 / β_1 - Bereich zwei Fraktionen mit Oxidaseaktivität in Erscheinung traten, handelt es sich um den Nachweis der Bindung von Haptoglobin - Hämoglobin und Haptoglobin - Häm (α_2 - Fraktion) sowie die Bindung von Hämopectin - Hämatin (β_1 - Fraktion). Das bedeutet, daß die Hämolyse in den entsprechenden Fällen stärker vorgelegen hat oder aber, daß hier die Haptoglobin - Bindungskapazität oder die Haptoglobin - Konzentration erheblich reduziert waren.

Schließlich darf in all den Fällen, in welchen zusätzlich im Albuminbereich Peroxidaseaktivitäten nachweisbar wurden, angenommen werden, daß hier eine Methämoglobinbindung im Albuminbereich (Methämalbumin) infolge starker Hämolyse stattgefunden hat. Die Tatsache, daß in diesen Beispielen Haptoglobin und Hämopectin stark oxidaseaktiv waren, schließt eine funktionelle Insuffizienz ebenso aus wie eine Erniedri-

gung der Konzentrationen der beiden Plasmakomponenten. In jenen Fällen, in welchen vier oxidaseaktive Fraktionen objektiviert werden konnten, ist zu diskutieren, ob im β - Bereich außer dem bereits beschriebenen β_1 - Hämopectin das β_1 - Hämoglobin-bindende Protein eine Rolle spielt.

Die eigenen Ergebnisse werden weitgehend bestätigt durch Befunde anderer Autoren (16, 36). Der Wert der vorgenommenen Untersuchungen kann dahingehend beurteilt werden, daß mit dieser einfachen Technik der CAF - Elektrophorese und nachfolgender Behandlung mit Benzidinreagenz folgende Aussagen möglich sind:

1. Beurteilung des Hämolysegrades (intravasale Freisetzung von Hämoglobin).
2. Beurteilung der Bindungskapazität von Haptoglobin (mit Bezug auf Hämoglobin) sowie von Haptoglobin x (mit Bezug auf Hämatin), schließlich von Albumin (mit Bezug auf Met - Hämoglobin).
3. Beurteilung quantitativer Reduzierung der Hämoglobin- und Hämoglobinderivatbindenden Plasmaproteinfraktionen.
4. Aufklärung angeborener oder erworbener Defekte des Haptoglobins, des Haptoglobin x oder auch des Albumins.

Die Methodik hat sich für das Routinelaboratorium als geeignet erwiesen.

IV. Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurde die elektrophoretische Differenzierung Hämoglobin - Haptoglobin-haltiger Seren auf Celluloseacetatfolien (CAF) unter gleichzeitiger Ausnutzung der Peroxidaseaktivität dieses Komplexes vorgenommen. Dabei sollte vor allem die Anwendbarkeit der CAF - Elektrophorese in Kombination mit der Benzidin - Reaktion für das klinische Routinelaboratorium geprüft werden.

Als Ergebnis konnte festgestellt werden, daß sich die CAF - Elektrophorese mit nachfolgender Peroxidase - Nachweisreaktion durchaus als geeignet erwies, Hämoglobin - Haptoglobin - sowie Häm - Hämoexin - und Methämalbumin - Komplexe zur Darstellung zu bringen. Peroxidase - aktive Fraktionen wurden zur Hauptsache im α_2 - Globulin - Bereich, darüber hinaus aber auch im Albumin- sowie β - Globulin - Bereich nachgewiesen.

Bei der Proteinfärbung fand sich in der überwiegenden Zahl der untersuchten Seren eine Dysproteinämie mit starker α_2 - und β - Globulin - Vermehrung.

Die gewonnenen Ergebnisse wurden mit den Befunden der einschlägigen Literatur verglichen und diskutiert.

V. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) ABER, G.M. and D.S. ROWE :
The binding of haematin by serum proteins.
Brit. J. Haemat. 6, 160 (1960)
- 2) ALBERT-RECHT, F. :
Quantitation of Plasma Proteins on cellulose acetate strips.
Clin. Chim. Acta 4, 627-638 (1959)
- 3) ALFONSO, E. :
On the electrophoresis of proteins on cellulose acetate membranes.
Clin. Chim. Acta 6, 883 (1961)
- 4) ALFONSO, E. :
On the electrophoretic fractionation of normal human erythrocyte lysates.
Clin. Chim. Acta 8, 446 (1963)
- 5) ALLISON, A.C., a p W. REES :
The binding of haemoglobin by plasma proteins (haptoglobins).
Brit. med. J. 2, 1137 (1957)
- 6) BRAUN, H.J., F.W. ALY :
Bestimmung des Serumhaptoglobins mit der Immuno-diffusionsmethode.
Klin. Wochenschr. 46/7, 385-387 (1968)
- 7) ATCHLEY, W.A. :
Analysis of human leucocyte-desoxyribonucleohistone by immuno-electrophoresis on cellulose acetate.
Nature 188, 579 (1960)
- 8) BARNETT, H. :
Electrophoretic separation of lactate dehydrogenase enzymes on celluloseacetate.
Biochem. J. 84, 83 P (1962)

- 9) BARNETT, H. :
The staining of lactic dehydrogenase iso-enzymes
electrophoretic separation on cellulose acetate.
J. Clin. Path. 17, 567 (1964)
- 10) BARTLETT, R.C. :
Rapid cellulose acetate electrophoresis.
I. Qualitative and quantitative haemoglobine fractiona-
tion.
Clin. Chem. 9, 325-329 (1963)
- 11) BARTLETT, R.C. :
Rapid cellulose acetate electrophoresis 1 Serum proteins.
Clin. Chem. 9, 317 (1963)
- 12) BERGNER-RABINOWITZ, S. :
A cellulose acetate membrane immunodiffusion typing
technique for group A. hemolytic streptococci.
J. Lab. Clin. Med. 64, 488 (1964)
- 13) BLACKWELL, R.O., C.S. LIU :
Haptoglobin type determination by cellulose acetate
electrophoresis.
Clin. Chim. Acta 6, 868-871 (1963)
- 14) BRACKENRIDGE, C.J. :
Variable dye uptake in the quantitative analysis of
abnormal globulines by cellulose acetate electrophoresis.
Anal. Chem. 32, 1359 (1960)
- 15) BRAUN, H.J. :
Eigenschaften und Funktion menschlicher Serumproteine
bei intra vasaler Hämolysse.
Dtsch. med. Wschr. 96, 595-600 (1971)
- 16) BRUS, I., S.M. LEWIS :
The haptoglobin content of serum in haemolytic Anaemia.
Brit. J. Haemat. 5, 348-355 (1959)
- 17) BUNN, H.F., J.H. JANDL :
Exchange of heme among hemoglobin molecules.
Proc. nat. Acad. Sci. 56, 974 (1966)

- 18) BUNN, H.F., ESHAM, W.T., R.W. BULL :
The renal handling of hemoglobin.
J. exp. Med. 129, 909 (1969)
- 19) CONSDEN, R., J. KOHN :
Cellulose acetate as a medium for immuno-diffusion.
Nature 183, 1512 (1959)
- 20) DUKE, E.J. :
A comparison of the plasma proteins of C₃H strain mice,
found by cellulose acetate and starch-gel electrophore-
sis.
Nature 197, 288-289 (1963)
- 21) FAIRLEY, N.H. :
Methaemalbumin.
Nature, 142, 1156 (1938)
- 22) FAIRLEY, N.H., R.J. BROMFIELD :
(1934) zitiert nach :
FAIRLEY, N.H. : Methaemalbumin.
Quart. J. Med. 10, 95 (1941)
- 23) FAULSTICK, D.A., LOWENSTEIN, J., M.J. YIENGST :
Clearance kinetics of haptoglobin - hemoglobin com-
plex in the human.
Blood 20, 65 (1962)
- 24) FRIEDMAN, H.S. :
A standardized procedure for serum protein electro-
phoresis on cellulose acetate membranes.
Clin. Chim. Acta 6, 775 (1961)
- 25) FRIEDMAN, H.S. :
A rapid screening test for abnormal haemoglobines.
The detection of haemoglobin A₂.
Clin. Chim. Acta 7, 100 (1962)
- 26) GARBY, L., W.D. NOYES :
Studies on haemoglobin metabolism.
J. clin. Invest. 38, 1479 (1959)

- 27) GARBY, L., J. OBARA :
Organ uptake and plasma transportation kinetics of hemoglobin in rats.
Blut 6, 143 (1960)
- 28) GAVRILESCU, K., J.M. SMALL :
Serum electrophoretic changes in polymyositis.
Brit. Med. J. II, 1720-1723 (1962)
- 29) GLOWATZKI, G. :
Die Haptoglobine.
Med. Klin. 42, 1757-1760 (1957)
- 30) GRABAR, P., de VAUX ST. CYR, Ch., H. CLEVE :
Présence de β_2 -globuline dans les extraits perchloriques de sérums humains normaux.
Bull. Soc. chim. biol. 42, 853 (1960)
- 31) GRUNBAUM, B.W., FESSEL, W.J., C.F. PIEL :
Densitometric evaluation of microelectrophoretic serum. Protein patterns on cellulose acetate membranes.
Anal. Chem. 7, 568 (1961)
- 32) GRUNBAUM, B.W., L. DONG :
Immuno-electrophoresis with cellulose acetate.
Nature 194, 185 (1962)
- 33) HALL, R. :
A simple and rapid method for the estimation of haptoglobins in serum.
J. med. Lab. Technol. 21, 64-65 (1964)
- 34) HANKS, G.E., CASSEL, M., RAY, R.N., H. CHAPLIN :
Further modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma.
J. Lab. chin. Med. 56, 486 (1960)
- 35) HEIDE, K., HAUPT, H., TÖRIKO, K., H.E. SCHULTZE :
On the heme-binding capacity of hemopexin.
Clin. Chim. Acta 10, 460 (1964)

- 36) JAVID, J., H. HOROWITZ :
An Improved Technique for the quantitation of serum Haptoglobin.
Am. Journal of Clinical Pathology 34, 35-39 (1960)
- 37) JAYLE, M.F. :
Etude comparative de l'action catalytique des peroxydases végétales et de l'hémoglobine.
Bull. Soc. Chim. biol. 21, 14 (1939)
- 38) JAYLE, M.F., G. BOUSSIER :
Les seromucoides du sang: leur relations avec les mucoprotéines de la substance fondamentale de tissu conjonctif.
Expos. annu. Biochim. Méd. 17, 157 (1955)
- 39) JAYLE, M.F., BOUSSIER, G., J. BADIN :
Electrophorèse de l'haptoglobine et de son complexe hémoglobinique.
Bull. Soc. Chim. biol. 34, 1063 (1952)
- 40) KOHN, J. :
A new supporting medium for zone electrophoresis.
Biochem. J. 65, 9 (1957)
- 41) KOHN, J. :
A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis.
Clin. Chim. Acta 2, 297 (1957)
- 42) KOHN, J. :
Small-scale membrane filter electrophoresis and immunoelectrophoresis.
Clin. Chim. Acta 3, 450 (1958)
- 43) KOHN, J. :
A micro-electrophoretic method.
Nature 181, 839 (1958)
- 44) KOHN, J. :
Rapid small-scale electrophoresis of abnormal haemoglobins.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. 52, 4 (1958)

- 45) KOHN, J. :
"Membrane Filter Electrophoresis" in H. Peeters
"Protides of the Biological Fluids", Proceedings
of the 5 th Colloquium,
Bruges 1957 Elsevier Publ.Comp., Amsterdam (1958)
- 46) KOHN, J. :
Small-scale and micro-membrane electrophoresis and
immuno-elctrophoresis.
Protides of the Biological Fluids, 6. Colloquium
Brügge 1958, Seite 74 (1959)
- 47) KOHN, J. :
Electrophoretic and immunological studies on some
body fluids in normal and pathological conditions
and a preliminary communication on the separation
of proteins of the Labyrinthine Fluids.
Protides Biol. Fluids, Proc. 7 th Colloquium Bruges
1959, Elsevier Publ. Comp. Amsterdam (1960)
- 48) KOHN, J. :
A lipoprotein staining method for zone electrophoresis.
Nature 189, 312 (1961)
- 49) KOHN, J. :
Immuno diffusion technique on cellulose acetate.
Protides of the Biol. Fluids, Brügge 1961 (1961)
- 50) LITTLE, H.N., J.B. NEILANDS :
Binding of haematin by serum albumin.
Nature 188, 913 (1960)
- 51) MÜLLER-EBERHARD, V., H.H. LIEM :
Exchange of heme between human hemopexin, human al-
bumin, rabbit hemopexin and rabbit albumin.
Fed. Proc. 27, 723 (1968)
- 52) MULLAN, F.A., HANCOCK, D.M., D.W. NEILL :
Electrophoresis of serum and soluble liver proteins
on cellulose acetate.
Nature 194, 149 (1962)

- 53) NAGEL, R.L., ROTHMANN, M.C., BRADLEY, Th.B., H.M. RANNEY :
Comparative haptoglobin binding properties of oxy-hemoglobin and deoxyhemoglobin.
J. Biol. Chem. 240, 4543 (1965)
- 54) NAGEL, R.L., H.Qu. GIBSON :
Kinetics and mechanism of complex formation between hemoglobin and haptoglobin.
J. Biol. Chem. 242, 3428 (1967)
- 55) NELSON, T.L., GARLAND-STROUP, R. WEDDEL :
Immunoelectrophoretic identification of human serum proteins on a cellulose-acetate medium.
Amer. J. Clin. Path. Vol. 42, No. 3, 237-244 (1964)
- 56) OHLSEN, J.E. :
Rapid method for zone electrophoresis of serum and plasma proteins. The use of cellulose acetate strips.
Nebraska State Med. J. 46, 331-334 (1961)
- 57) PARK, D.C., K. SWINBURNE :
Proteins of serum and oedema fluid in rheumathoid arthritis.
Brit. Med. J. 1964, S. 86-88 (1964)
- 58) POLONOVSKI, M., M.F. JAYLE :
Existence dans le plasma sanguin d'une substance activant l'action peroxydasique de l'hémoglobine.
C. R. Soc. Biol. 129, 457 (1938)
- 59) RITTS, R.E., A.B. ONDRICK :
Electrophoresis of serum proteins on cellulose acetate.
Amer. J. Clin. Path. Vol. 41, No.3, pp. 321-331
Technical Bulletin of the Registry of Medical Technologists Vol. 34, No.2, pp. 21-31
Instrument Applications (Shandon) No.2, Nov. 1964 (1964)
- 60) ROSENFELD, M., D.M. SURGENOR :
Methemalbumin. Interaction between human serum albumin and ferriprotoporphyrin IX.
J. Biol. Chem. 183, 663 (1950)

- 61) ROSSI-FANELLI, A., E. ANTONINI :
Dissociation of hematin from hemoproteins at neutral pH
J. Biol. Chem. 235, PC 4 (1960)
- 62) SCHERR, G.H. :
Cellulose acetate electrophoresis in microbiology
and immunology.
Transactions New York Acad. Scie. 23, 519-530 (1961)
- 63) SCHUMACHER, G., H.D. SCHLUMBERGER :
Eigenschaften, Bestimmung und klinische Bedeutung
von Haptoglobin.
Klin. Wschr. 50, 67 (1962)
- 64) SEARS, D.A., H.J. HUSER :
Plasma hematin-binding and clearance in the rhesus
monkey.
Proc. Soc. exp. Biol. 121, 111 (1966)
- 65) SHINOWARA, G.Y., M.J. WALTERS :
Hematin-studies on protein complexes and determina-
tion in human plasma.
Amer. J. Clin. Path. 40, 113 (1963)
- 66) SÜDHOF, H., THUM, I.M., H. KRUPPA :
Die Kohlenhydratfärbung auf der Cellulose-Acetat-
Folie und deren Anwendung auf die Untersuchung von
Rheumatiker-Sera.
Klin. Wschr. 37, 1181 (1959)
- 67) SÜDHOF, H., KRUPPA, H., I.M. THUM :
Die Glycoproteide innerhalb der Serumeiweißfraktionen
beim chronischen Gelenkrheumatismus.
Ztschr. f. Rheumaforsch. 18, 337 (1959)
- 68) SÜDHOF, H. :
Serumglykoproteidbestimmung auf der Celluloseacetat-
folie.
Protides of the Biological Fluids, 9. Colloquium
Brügge 1961, Seite 123 (1961)

69) WOODS, U.R., YUDOWITZ, B.S., J.R. ENGLE :

Development of Serum Haptoglobins in Man.
Proc.Soc. Exp. Biol. Med. 107 (1961)

VI. Lebenslauf

Am 6. August 1944 wurde ich als Sohn des damaligen Amtsgerichtsrates Dr. jur. Fritz Fuss und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Lindner, in Rochlitz, Krs. Rochlitz in Sachsen geboren. 1946 übersiedelten meine Eltern nach Schwäbisch Hall, wo ich am 17. September 1950 in die Grundschule eintrat. Am 27. April 1954 wechselte ich auf das Gymnasium bei St. Michael in Schwäbisch Hall über und legte an dieser Schule am 26. Februar 1964 die Reifeprüfung ab. Vom 2. April 1964 bis zum 31. März 1965 leistete ich den verkürzten Grundwehrdienst in einer Heeresseinheit der Bundeswehr in Dillingen/Donau ab. Am 1. Mai 1965 nahm ich mit dem Sommersemester 1965 das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg zu Erlangen auf und bestand dort am 28. Februar 1966 den Naturwissenschaftlichen Teil der Ärztlichen Vorprüfung (Vorphysikum) mit der Gesamtnote "Gut". Am 8. November 1967 legte ich an der selben Universität die Ärztliche Vorprüfung (Physikum) mit der Gesamtnote "Gut" ab.

Auch den klinischen Teil meines Studiums habe ich in Erlangen verbracht. Die Ärztliche Prüfung habe ich am 19. Februar 1971 mit der Gesamtnote "Gut" bestanden. Während des klinischen Studienabschnitts war ich als Famulus an der Inneren Abteilung des Diakoniewerks Kaiserswerth in Düsseldorf-Kaiserswerth, der Inneren Abteilung der Evangelischen Diakonissenanstalt Schwäbisch Hall und der Chirurgischen Abteilung der Augusta Kranken-Anstalt in Bochum tätig. Vom 1. April 1971 bis 31. Juli 1971 habe ich als Medizinalassistent an der Chirurgischen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses Elsey in Hohenlimburg/Westfalen gearbeitet. Seit 15. August 1971 bin ich an der Inneren Abteilung der Augusta Kranken- Anstalt in Bochum angestellt.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
